

110399

日本特許庁  
PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 30 APR 1999

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日  
Date of Application:

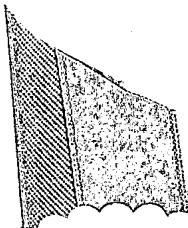
1998年 3月12日

出願番号  
Application Number:

平成10年特許願第060245号

出願人  
Applicant(s):

山之内製薬株式会社



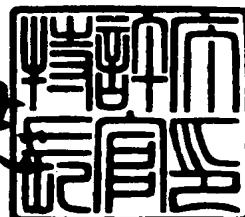
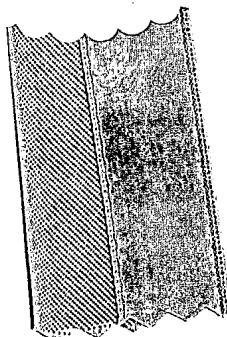
**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 4月16日

特許長官  
Commissioner,  
Patent Office

佐山 建志



出証番号 出証特平11-3022844

【書類名】 特許願  
【整理番号】 0000002810  
【提出日】 平成10年 3月12日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 C12N 15/00  
【発明の名称】 新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質、およびその製造法  
【請求項の数】 7  
【発明者】  
【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘21 山之内製薬株式会社内  
【氏名】 松本 光之  
【発明者】  
【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘21 山之内製薬株式会社内  
【氏名】 小林 正人  
【特許出願人】  
【識別番号】 000006677  
【氏名又は名称】 山之内製薬株式会社  
【代表者】 小野田 正愛  
【代理人】  
【識別番号】 100089200  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 長井 省三  
【電話番号】 03-5916-5530  
【選任した代理人】  
【識別番号】 100098501  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 森田 拓  
【電話番号】 03-5916-5528

【選任した代理人】

【識別番号】 100109357

【弁理士】

【氏名又は名称】 矢野 恵美子

【電話番号】 03-5916-5531

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 005348

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9704254

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質、およびその製造法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列を有しているG蛋白質共役型レセプター蛋白質、あるいは、該蛋白質の同効物であるG蛋白質共役型レセプター蛋白質。

【請求項2】 配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列を有するG蛋白質共役型レセプター蛋白質。

【請求項3】 請求項1乃至2記載のG蛋白質共役型レセプター蛋白質をコードする塩基配列を有する遺伝子。

【請求項4】 配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列を有する遺伝子。

【請求項5】 請求項3乃至4記載の遺伝子を含むベクター。

【請求項6】 請求項5記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項7】 請求項6記載の宿主細胞を用いる請求項1乃至2記載のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する分野】

本発明は、遺伝子工学の分野に属し、新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質、該G蛋白質共役型レセプター蛋白質をコードする遺伝子、該G蛋白質共役型レセプター蛋白質の製造方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

三量体型GTP結合蛋白質の活性化を介して細胞内にシグナルを伝達する細胞膜レセプター群は「G蛋白質共役型レセプター」と総称されている。今まで知られている全てのG蛋白質共役型レセプターはアミノ末端を細胞外、カルボキシル末端を細胞内とし、細胞膜を7回貫通する構造を共有するスーパーファミリーを形成していることから「7回膜貫通型レセプター」と総称される場合もある。G蛋

白質共役型レセプターは様々な生理活性物質の情報を、三量体型GTP結合蛋白質の活性化、それにより引き起こされる細胞内セカンドメッセンジャーの変動を介して細胞膜から細胞内へと伝達する。三量体型GTP結合蛋白質により制御される細胞内セカンドメッセンジャーは、アデニレートシクラーゼを介するcAMP、 fosfօリバーゼCを介するCa++などがよく知られているが、三量体型GTP結合蛋白質を介したチャネルの制御、リン酸化酵素の活性化など多くの細胞蛋白がその標的となっていることが最近明らかとなってきた (Gudermann T. et al. (1997) *Annu. Rev. Neurosci.* 20, 399-427)。G蛋白質共役型レセプターを介して情報を伝達する生理活性物質の中には、神経伝達物質、ホルモン、ケモカイン、脂質由来の情報伝達物質、2価イオン、プロテアーゼなど既存の生理活性物質の多くが含まれる。これら生理活性物質にはそれぞれ特異的なG蛋白質共役型レセプターが存在し、その情報を伝達する。

#### 【0003】

現在までに数百種類のG蛋白質共役型レセプターが真核生物からクローニングされている。ヒトに関しては百種類以上の内在性リガンドとの対応がとれたG蛋白質共役型レセプターがクローニングされており、これらの多くが疾患に対する薬剤の標的となっている。G蛋白質共役型レセプターが標的となっている疾患は多岐にわたり、中枢神経系、循環器系、炎症免疫系、消化器系、運動器系、泌尿器生殖器系それぞれの分野でG蛋白質共役型レセプターに作用する有効な薬剤が存在する (Stadel, J. et al. (1997) *Trends Pharmacol. Sci.*, 18 430-437)。このことはG蛋白質共役型レセプターのアゴニスト或いはアンタゴニストが疾患の治療剤となる可能性が高いことを示唆し、そのため新たなG蛋白質共役型レセプターの発見、同定のための研究が盛んに行われている。

#### 【0004】

G蛋白質共役型レセプターはそのスーパーファミリー内での構造類似性から遺伝子のクローニングが先行する場合も多く、内在性リガンドとの対応がとれていなレセプターはオーファンG蛋白質共役型レセプターと呼ばれている。一般的にオーファンG蛋白質共役型レセプターには特異的なリガンドが存在しないため、そのアゴニスト、アンタゴニストを開発することは困難であった。しかし、近年

、充実された化合物ライブラリーと高性能ハイスループットスクリーニングと組み合わせることで、オーファンG蛋白質共役型レセプターをターゲットとした薬剤の創製が提唱されている (Stadel, J. et al. (1997) Trends Pharmacol. Sci., 18 430-437)。すなわち、多くのG蛋白質共役型レセプターのセカンドメッセンジャーとなっているcAMP、Ca<sup>++</sup>の測定、或いは、三量体型GTP結合蛋白質の活性化の指標となるGTPase活性、GTP γ SのG蛋白質結合測定をハイスループット化することで化合物ライブラリーからオーファンG蛋白質共役型レセプターに対するアゴニストをスクリーニングすることが可能であり、その化合物を利用した特異的なアゴニスト及びアンタゴニストの発見、ひいては特定の疾患治療薬の開発が可能であるということである。このような状況下では、新しい疾患の治療ターゲットとなり得る新規G蛋白質共役型レセプターの発見が、G蛋白質共役型レセプターに作用する薬剤創製の最も重要なステップと見なすことができる。

#### 【0005】

G蛋白質共役型レセプターでは、一つの内在性リガンドに対して複数のレセプターが存在する場合がある。このようなレセプター群はレセプターファミリーとよばれ、各々のレセプターはサブタイプと称される。全てのG蛋白質共役型レセプターは細胞膜を7回貫通する構造を共有するため、互いに独立したG蛋白質共役型レセプターでも膜貫通領域を中心に20-25%のアミノ酸が保存されているが、レセプターファミリーを形成している場合にはそのサブタイプ間で保存されているアミノ酸の割合が35 %以上、特に関連が高いサブタイプ間では60-80 %と有意に上昇する (Strader, C.D., et al. (1994) Annu. Rev. Biochem. 63, 101-132)。レセプターファミリーが存在する内在性リガンドをターゲットとした疾患治療薬の開発を考える際には、サブタイプの特異性が重要となる場合が多い。通常、薬剤の主作用を介するサブタイプへの作用に対して、他のサブタイプへの作用は副作用につながることが多いためである。このためサブタイプ特異的なアゴニスト、或いはアンタゴニストの創製が望まれるが、そのためにはサブタイプの特異性を検出する手段が必要である。現在ではサブタイプの遺伝子をクローニングし、それを発現させた培養細胞系などを用いて特異性を検出する系を構築するという方法が一般的である。

## 【0006】

新規なG蛋白質共役型レセプターを疾患治療のターゲットとする場合にもサブタイプ特異性が重要である可能性は高く、このため新規G蛋白質共役型レセプターでもレセプターファミリーの発見は重要である。独立したG蛋白質共役型レセプター間ではアミノ酸配列のホモロジーは全体で20-25%であるが、レセプターファミリーを形成している場合、ファミリー内では通常ホモロジーが有意に上昇することから、二者のG蛋白質共役型レセプターのホモロジーを比較することで、それらがファミリーを形成しているかどうか推定することが可能である。これを利用することでファミリーを形成している新規G蛋白質共役型レセプターの発見も可能であり、新規G蛋白質共役型レセプターファミリーが発見された場合は、サブタイプ特異的なアゴニスト及びアンタゴニストの創製が可能なことから疾患治療薬への道が更に拓けるものと考えられる。

## 【0007】

中枢神経系は神経伝達物質に代表される生理活性物質を用いて様々な情報を伝達、制御している。その情報伝達の際にG蛋白質共役型レセプターが重要な役割を果たしており、また多くの種類のG蛋白質共役型レセプターが中枢神経系に存在していることが知られている。これらの多くが中枢神経系の疾患の治療ターゲットとなっている。例えば、神経伝達物質ドーパミンのG蛋白質共役型レセプターは精神分裂病 (Seeman, P. et al. (1997) *Neuropsychopharmacology*, 16 93-110) 、セロトニンのG蛋白質共役型レセプターは鬱病 (Cowen P. J. (1991) *Br. J. Psychiatry*, 159 (Suppl. 12) 7-14) 、ニューロペプチドYのG蛋白質共役型レセプターは摂食障害 (Blomqvist A. G. and Herzog H. (1997) *Trends Neurosci.*, 20 294-298) の治療ターゲットであると考えられている。このことから、中枢神経系で発現している新規なG蛋白質共役型レセプターは新たな中枢神経系の疾患の治療ターゲットの候補になるとと考えられる。また、サブタイプ特異的な薬剤を開発するためには中枢神経系で発現している新規なG蛋白質共役型レセプターでもファミリーを発見することが望ましい。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、中枢神経系に発現している新規G蛋白質共役型レセプターファミリー蛋白質を中心性疾患の治療薬剤の標的として提供することを課題とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために銳意研究を重ねた結果、中枢神経系に発現している新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質ファミリーをコードする遺伝子（SREB1、SREB2、SREB3）を単離することに成功した。また、該遺伝子を含むベクター、該ベクターを含む宿主細胞、該宿主細胞を用いた同G蛋白質共役型レセプター蛋白質の製造法を確立し、該G蛋白質共役型レセプター蛋白質活性を修飾する化合物およびペプチドのスクリーニングを可能とした。

【0010】

具体的には本発明は、

- (1) 配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列を有しているG蛋白質共役型レセプター蛋白質、あるいは、該蛋白質の同効物であるG蛋白質共役型レセプター蛋白質。
- (2) 配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列を有するG蛋白質共役型レセプター蛋白質。
- (3) (1)乃至(2)記載のG蛋白質共役型レセプター蛋白質をコードする塩基配列を有する遺伝子。
- (4) 配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列を有する遺伝子。
- (5) (3)乃至(4)記載の遺伝子を含むベクター。
- (6) (5)記載のベクターを含む宿主細胞。
- (7) (6)記載の宿主細胞を用いる(1)乃至(2)記載のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の製造方法。

に関する。

## 【0011】

## 【発明の実施の形態】

以下、本発明で使用される用語に付き説明する。

「ヒト由来」とは、ヒトで発現しているG蛋白質共役型レセプター蛋白質と同一のアミノ酸配列であることをいう。

本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の「同効物」とは、配列番号：2、4、あるいは6記載のアミノ酸配列で示されるG蛋白質共役型レセプター蛋白質のいずれかと同一の活性を示す、中枢神経系に発現しているヒト由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質をいう。

なお、G蛋白質共役型レセプターとG蛋白質共役型レセプター蛋白質は、同義である。

## 【0012】

本発明の新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質は、配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列で示されるG蛋白質共役型レセプター蛋白質、あるいは、それらの同効物なら何れでもよい。具体的には配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列、あるいは、配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列において1もしくは複数個のアミノ酸でアミノ酸の置換、欠失または挿入があるアミノ酸配列を有し、かつ、配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列で示される蛋白質と同一の活性を有するヒト由来のG蛋白質共役型レセプター蛋白質であれば本発明に包含される。好ましくは、配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列を有するG蛋白質共役型レセプター蛋白質である。

## 【0013】

また、本発明の新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質をコードする塩基配列を有する遺伝子は、配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列で示されるG蛋白質共役型レセプター蛋白質、あるいは、それらの同効物をコードする塩基配列を有する遺伝子なら何れでもよい。好ましくは、配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列を有する遺伝子である。さらに好ましくは、配列番号：1記載の塩基配列の1番目から1125番目、配列番号：3記載の塩基配列の1番目から1110番目、または配列番号：5記載の塩基配列の

1番目から1119番目を有する遺伝子である。

【0014】

本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質をコードする遺伝子は、以下のようにして得ることができる。

1) 新規G蛋白質共役型レセプター遺伝子の製造方法

a) 第1製造法

本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質を產生する能力を有するヒト細胞あるいは組織からmRNAを抽出する。次いでこのmRNAを鑄型として該G蛋白質共役型レセプター蛋白質mRNAまたは一部のmRNA領域をはさんだ2種類のプライマーを用いる。逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖反応(以下RT-PCRという)を行うことにより、該G蛋白質共役型レセプター蛋白質cDNAまたはその一部を得ることができる。さらに、得られたG蛋白質共役型レセプターcDNAまたはその一部を適當な発現ベクターに組み込むことにより、宿主細胞で発現させ、該レセプター蛋白質を製造することができる。

【0015】

まず、本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の產生能力を有する細胞あるいは組織、例えばヒト脳、から該蛋白質をコードするものを包含するmRNAを既知の方法により抽出する。抽出法としては、グアニジン・チオシアネート・ホット・フェノール法、グアニジン・チオシアネート-グアニジン・塩酸法等が挙げられるが、好ましくはグアニジン・チオシアネート塩化セシウム法が挙げられる。該蛋白質の產生能力を有する細胞あるいは組織は、該蛋白質をコードする塩基配列を有する遺伝子あるいはその一部を用いたノーザンプロッティング法、該蛋白質に特異的な抗体を用いたウエスタンプロッティング法などにより特定することができる。

mRNAの精製は常法に従えばよく、例えばmRNAをオリゴ(dT)セルロースカラムに吸着・溶出させ、精製することができる。さらに、ショ糖密度勾配遠心法等によりmRNAをさらに分画することもできる。

また、mRNAを抽出せずとも、市販されている抽出済mRNAを用いても良い。

次に、精製されたmRNAをランダムプライマー又はオリゴdTプライマーの存在下で、逆転写酵素反応を行い第1鎖cDNAを合成する。この合成は常法によって行うことができる。得られた第1鎖cDNAを用い、目的遺伝子の一部の領域をはさんだ2種類のプライマーを用いてPCRに供し、目的とする新規G蛋白質共役型レセプターDNAを増幅する。得られたDNAをアガロースゲル電気泳動等により分画する。所望により、上記DNAを制限酸素等で切断し、接続することによって目的とするDNA断片を得ることもできる。

#### 【0016】

##### b) 第2製造法

本発明の遺伝子は上述の製造法の他、常法の遺伝子工学的手法を用いて製造することもできる。まず、前述の方法で得たmRNAを錫型として逆転写酵素を用いて1本鎖cDNAを合成した後、この1本鎖cDNAから2本鎖cDNAを合成する。その方法としてはS1ヌクレアーゼ法(Efstratiadis, A. et al. (1976) Cell 7, 279-288)、Land法(Land, H. et al. (1981) Nucleic Acids Res. 9, 2251-2266)、O. Joon Yoo法(Yoo, O. J. et al. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 1049-1053)、Okayama-Berg法(Okayama, H. and Berg, P. (1982) Mol. Cell. Biol. 2, 161-170)などが挙げられる。

#### 【0017】

次に、上述の方法で得られる組換えプラスミドを大腸菌、例えばDH5 $\alpha$ 株に導入して形質転換させて、テトラサイクリン耐性あるいはアンピシリン耐性を指標として組換体を選択することができる。宿主細胞の形質転換は、例えば、宿主細胞が大腸菌の場合にはHanahanの方法(Hanahan, D. (1983) J. Mol. Biol. 166, 557-580)、すなわちCaCl<sub>2</sub>やMgCl<sub>2</sub>またはRbClを共存させて調製したコンピテント細胞に該組換えDNA体を加える方法により実施することができる。なお、ベクターとしてはプラスミド以外にもラムダ系などのファージベクターも用いることができる。

## 【0018】

上記により得られる形質転換株から、目的の新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質のDNAを有する株を選択する方法としては、例えば以下に示す各種方法を採用できる。

## ① 合成オリゴヌクレオチドプローブを用いるスクリーニング法

本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の全部または一部に対応するオリゴヌクレオチドを合成し（この場合コドン使用頻度を用いて導いたヌクレオチド配列または考えられるヌクレオチド配列を組合せた複数個のヌクレオチド配列のどちらでもよく、また後者の場合、イノシンを含ませてその種類を減らすことができる）、これをプローブ（ $^{32}\text{P}$ 又は $^{33}\text{P}$ で標識する）として、形質転換株のDNAを変性固定したニトロセルロースフィルターとハイブリダイズさせ、得られたポジティブ株を検索して、これを選択する。

## ② ポリメラーゼ連鎖反応により作製したプローブを用いるスクリーニング法

本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の一部に対応するセンスプライマーとアンチセンスプライマーのオリゴヌクレオチドを合成し、これらを組合せてポリメラーゼ連鎖反応（Saiki, R. k. et al. (1988) Science 239, 487-491）を行い、目的のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の全部又は一部をコードするDNA断片を増幅する。ここで用いる錆型DNAとしては、該G蛋白質共役型レセプター蛋白質を産生する細胞のmRNAにより逆転写反応にて合成したcDNA、またはゲノムDNAを用いることができる。このようにして調製したDNAを断片を $^{32}\text{P}$ 又は $^{33}\text{P}$ で標識し、これをプローブとして用いてコロニーハイブリダイゼーションまたはブラークハイブリダイゼーションを行うことにより目的のクローンを選択する。

## 【0019】

## ③ 他の動物細胞で新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質を産生させてスクリーニングする方法

形質転換株を培養し、遺伝子を増幅させ、その遺伝子を動物細胞にトランسفエクトし（この場合、自己複製可能で転写プロモーター領域を含むプラスミドもしくは動物細胞の染色体に組み込まれ得るようなプラスミドのいずれでもよい）

、遺伝子にコードされた蛋白を細胞表面に産生させる。本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質に対する抗体を用いて該蛋白質を検出することにより、元の形質転換株より目的のG蛋白質共役型レセプター蛋白質をコードするcDNAを有する株を選択する。

④ 本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質に対する抗体を用いて選択する方法

あらかじめ、cDNAを発現ベクターに組込み、形質転換株表面で蛋白を産生させ、本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質に対する抗体および該抗体に対する2次抗体を用いて、所望のG蛋白質共役型レセプター蛋白質産生株を検出し、目的の株を選択する。

⑤ セレクティブ・ハイブリダイゼーション・トランスレーションの系を用いる方法

形質転換株から得られるcDNAを、ニトロセルロースフィルター等にプロットし本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質産生細胞からのmRNAをハイブリダイズさせた後、cDNAに結合したmRNAを解離させ、回収する。回収されたmRNAを蛋白翻訳系、例えばアフリカツメガエルの卵母細胞への注入や、ウサギ網状赤血球ライゼートや小麦胚芽等の無細胞系で蛋白に翻訳させる。本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質に対する抗体を用いて検出して、目的の株を選択する。

#### 【0020】

得られた目的の形質転換株より本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質をコードするDNAを採取する方法は、公知の方法 (Maniatis, T. et al. (1982) : "Molecular Cloning-A Laboratory Manual" Cold Spring Harbor Laboratory, NY) に従い実施できる。例えば細胞よりプラスミドDNAに相当する画分を分離し、該プラスミドDNAよりcDNA領域を切り出すことにより行ない得る。

#### 【0021】

c) 第3製造法

配列番号：2、4、または6で表されるアミノ酸配列をコードする塩基配列を有する遺伝子は、化学合成法によって製造したDNA断片を結合することによっても製造できる。各DNAは、DNA合成機（例えば、Oligo 1000M DNA Synthesizer (Beckman)、あるいは、394 DNA/RNA Synthesizer (Applied Biosystems)など）を用いて合成することができる。

## 【0022】

## d) 第4製造法

本発明の遺伝子を利用して遺伝子工学的手法により得られる物質が本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質機能を発現するためには、必ずしも配列表 配列番号：2、4、または6に示されるアミノ酸配列のすべてを有するものである必要は無く、例えばその一部の配列であっても、あるいは他のアミノ酸配列が付加されていても、それが配列番号：2、4、または6に示されるアミノ酸配列で示されるG蛋白質共役型レセプター蛋白質と同一の活性を示す限り、それらの蛋白質もまた本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質に包含される。また、一般に真核生物の遺伝子はインターフェロン遺伝子等で知られているように、多型現象 (polymorphism) を示すと考えられ（例えば、Nishi, T. et al. (1985) J. Biochem. 97, 153-159を参照）、この多型現象によって1または複数個のアミノ酸が置換される場合もあれば、ヌクレオチド配列の変化はあってもアミノ酸は全く変わらない場合もある。したがって、配列番号：2、4、または6で示されるアミノ酸配列の中の1もしくは複数個の部位において、1もしくは複数個のアミノ酸残基が置換、失欠、または挿入されているヒト由来の蛋白質でも配列番号：2、4、または6記載のアミノ酸配列で示されるG蛋白質共役型レセプターと同一の活性を有していることがありえる。これらの蛋白質は、本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の同効物と呼び、本発明に含まれる。

## 【0023】

これらの本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の同効物をコードする塩基配列を有する遺伝子はすべて本発明に含まれる。このような各種の本発明の遺伝

子は、上記本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の情報に基づいて、例えばホスファイト・トリエステル法 (Hunkapiller, M. et al. (1984) *Nature* 10, 105-111) 等の常法に従い、核酸の化学合成により製造することもできる。なお、所望アミノ酸に対するコドンはそれ自体公知であり、その選択も任意でよく、例えば利用する宿主のコドン使用頻度を考慮して常法に従い決定できる (Crant ham, R. et al. (1981) *Nucleic Acids Res.* 9 r43-r74)。さらに、これら塩基配列のコドンの一部改変は、常法に従い、所望の改変をコードする合成オリゴヌクレオチドからなるプライマーを利用したサイトスペシフィック・ミュータジェネシス (site specific mutagenesis) (Mark, D. F. et al. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 5662-5666) 等に従うことができる。

#### 【0024】

以上、a) 乃至d) により得られるDNAの配列決定は、例えばマキサム-ギルバートの化学修飾法 (Maxam, A. M. and Gilbert, W. (1980) : "Methods in Enzymology" 65, 499-559) やM13を用いるジデオキシヌクレオチド鎖終結法 (Messing, J. and Vieira, J (1982) *Gene* 19, 269-276) 等により行うことができる。

#### 【0025】

また、本発明のベクター、本発明の宿主細胞、本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質は、下記の方法によって得ることができる。

##### 2) 本発明のG蛋白質共役型レセプターの組み換え蛋白質の製造方法

単離された本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質をコードする遺伝子を含む断片は、適当なベクターDNAに再び組込むことにより、他の真核生物の宿主細胞を形質転換させることができる。さらに、これらのベクターに適当なプロモーターおよび形質発現にかかる配列を導入することにより、それぞれの宿主細胞において遺伝子を発現させることが可能である。

## 【0026】

真核生物の宿主細胞には、脊椎動物、昆虫、酵母等の細胞が含まれ、脊椎動物細胞としては、例えばサルの細胞であるCOS細胞 (Gluzman, Y. (1981) Cell 23, 175-182) やチャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO) のジヒドロ葉酸レダクターゼ欠損株 (Urlaub, G. and Chasin, L. A. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 4216-4220) 等がよく用いられているが、これらに限定されるわけではない。

## 【0027】

脊椎動物細胞の発現ベクターとしては、通常発現しようとする遺伝子の上流に位置するプロモーター、RNAのスプライス部位、ポリアデニル化部位および転写終結配列等を有するものを使用でき、これはさらに必要により複製起点を有してもよい。該発現ベクターの例としては、SV40の初期プロモーターを有するpSV2dhfr (Subramani, S. et al. (1981) Mol. Cell. Biol. 1, 854-864) 等を例示できるが、これに限定されない。

## 【0028】

宿主細胞として、COS細胞を用いる場合を例に挙げると、発現ベクターとしては、SV40複製起点を有し、COS細胞において自律増殖が可能であり、さらに転写プロモーター、転写終結シグナルおよびRNAスプライス部位を備えたものを用いることができ、例えば、pME18S. (Maruyama, K. and Takebe, Y. (1990) Med. Immunol. 20, 27-32)、pEF-BOS (Mizushima, S. and Nagata, S. (1990) Nucleic Acids Res. 18, 5322)、pCDM8 (Seed, B. (1987) Nature 329, 840-842)、等が挙げられる。該発現ベクターはDEAE-デキストラン法 (Luthman, H. and Magnusson, G. (1983) Nucleic Acids Res. 11, 1295-1308)、リン酸カルシウム-DNA共沈殿法 (Graham, F. L. and

an der Ed, A. J. (1973) *Virology* 52, 456-457) および電気パスル穿孔法 (Neumann, E. et al. (1982) *EMBO J.* 1, 841-845) 等によりCOS細胞に取り込ませることができる、かくして所望の形質転換細胞を得ることができる。また、宿主細胞としてCHO細胞を用いる場合には、発現ベクターと共に、G418耐性マーカーとして機能するneo遺伝子を発現し得るベクター、例えばpRSVneo (Sambrook, J. et al. (1989) : "Molecular Cloning-A Laboratory Manual" Cold Spring Harbor Laboratory, NY) やpSV2-neo (Southern, P. J. and Berg, P. (1982) *J. Mol. Appl. Genet.* 1, 327-341) 等をコ・トランスフェクトし、G418耐性のコロニーを選択することにより新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質を安定に産生する形質転換細胞を得ることができる。

## 【0029】

上記で得られる所望の形質転換体は、常法に従い培養することができ、該培養により細胞内または細胞表面に本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質が生産される。該培養に用いられる培地としては、採用した宿主細胞に応じて慣用される各種のものを適宜選択でき、例えば上記COS細胞であればRPMI-1640培地やダルベッコ修正イーグル最小必須培地 (DMEM) 等の培地に必要に応じ牛胎児血清 (FBS) 等の血清成分を添加したものを使用できる。

## 【0030】

上記により、形質転換体の細胞内または細胞表面に生産される本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質は、該レセプター蛋白質の物理的性質や化学的性質等を利用した各種の公知の分離操作法により、それより分離・精製することができる。該方法としては、具体的には例えばレセプター蛋白質を含む膜分画を可溶化した後、通常の蛋白沈殿剤による処理、限外濾過、分子ふるいクロマトグラフィー (ゲル濾過) 、吸着クロマトグラフィー、イオン交換体クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 等の各種液体クロマトグラフィー、透析法、これらの組合せ等を例示できる。な

お、膜分画は常法に従って得ることができる。例えば本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質を表面に発現した細胞を培養し、これらをバッファーに懸濁後、ホモジナイズし遠心分離することにより得られる。また、できるだけ緩和な可溶化剤 (CHAPS、Triton X-100、ジキトニン等) でG蛋白質共役型レセプター蛋白質を可溶化することにより、可溶化後もレセプターの特性を保持することができる。

### 【0031】

本発明にはG蛋白質共役型レセプター蛋白質の活性を修飾する化合物およびペプチドのスクリーニング法が包含される。該スクリーニング法は、前記により構築されたG蛋白質共役型レセプター蛋白質を用いて、該G蛋白質共役型レセプター蛋白質の生理学的な特性に応じたG蛋白質共役型レセプター蛋白質の修飾の指標を測定する系に被験薬を添加し、該指標を測定する手段を含む。該測定系は、具体的には、以下のスクリーニング方法が挙げられる。また、被験薬は従来G蛋白質共役型レセプタリガンド活性を有することは知られているが該新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質の活性に対して選択的に修飾するか不明な化合物またはペプチド、あるいはケミカルファイルに登録されている種々のG蛋白質共役型レセプタリガンド活性については不明の公知化合物やペプチド、コンビナトリアル・ケミストリー技術 (Terrett, N.K., et al. (1995) *Tetrahedron* 51, 8 135-8137) によって得られた化合物群やファージ・ディスプレイ法 (Felici, F., et al. (1991) *J. Mol. Biol.* 222, 301-310) などを応用して作成されたランダム・ペプチド群を用いることができる。また、微生物の培養上清や、植物、海洋生物由来の天然成分などもスクリーニングの対象となる。あるいは本発明のスクリーニング法により選択された化合物またはペプチドを化学的または生物学的に修飾した化合物またはペプチドを用いる。

### 【0032】

3) 本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の活性を修飾する化合物およびペプチドのスクリーニング方法

a) GTP  $\gamma$  S結合法を利用したスクリーニング方法

本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質の活性を修飾する化合物およびペプ

チドはGTPγS結合法によりスクリーニングすることが可能である (Lazareno, S. and Birdsall, N.J.M. (1993) Br. J. Pharmacol. 109, 1120-1127)。同レセプター蛋白質を発現させた細胞膜を20 mM HEPES (pH 7.4), 100 mM NaCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM GDP溶液中で、<sup>35</sup>Sで標識されたGTPγS 400 pMと混合する。被検薬存在下と非存在下でincubation後、filtrationを行い、結合したGTPγSの放射活性を液体シンチレーションカウンター等で測定する。被検薬存在下における特異的なGTPγS結合の上昇を指標に、同G蛋白質共役型レセプター蛋白質のアゴニスト活性を有する化合物およびペプチドをスクリーニングすることができる。また、得られたアゴニスト活性を有する化合物およびペプチドによるGTPγS結合上昇の抑制を指標に同G蛋白質共役型レセプター蛋白質のアンタゴニスト活性を有する化合物およびペプチドをスクリーニングすることができる。

#### 【0033】

本発明には、前記スクリーニング法により選択されたG蛋白質共役型レセプター蛋白質の活性を有意に修飾する化合物またはペプチドを有効成分とする医薬が含まれる。

本発明医薬は、G蛋白質共役型レセプターの活性を選択的に制御する新規な薬理作用を有することを特徴としており、該医薬の用途としては該G蛋白質共役型レセプター活性の亢進、低下、変性等の異常に起因するあるいは該異常を発現・併発する疾患である中枢性疾患などが挙げられる。

#### 【0034】

本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質活性修飾化合物やペプチドを有効成分とする製剤は、該有効成分のタイプに応じて、それらの製剤化に通常用いられる担体や賦形剤、その他の添加剤を用いて調製されうる。

投与は錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、経口用液剤などによる経口投与、あるいは静注、筋注などの注射剤、坐剤、経皮投与剤、経粘膜投与剤などによる非経口投与が挙げられる。特に胃で消化されるペプチドにあっては静注等の非経口投与が望まれる。

本発明による経口投与のための固体組成物は、一つ又はそれ以上の活性物質が少なくとも一つの不活性な希釗剤、例えば乳糖、マンニトール、ブドウ糖、微結晶

セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウムなどと混合される。組成物は常法に従って、不活性な希釈剤以外の添加剤、例えば滑沢剤、崩壊剤、安定化剤、溶解乃至溶解補助剤などを含有していてもよい。錠剤や丸剤は必要により糖衣又は胃溶性若しくは腸溶性物質などのフィルムで被覆していてもよい。

#### 【0035】

経口のための液体組成物は、乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤を含み、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば精製水、エタノールを含む。該組成物は不活性な希釈剤以外の添加剤、例えば温潤剤、懸濁剤、甘味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。

非経口のための注射剤としては、無菌の水性または非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤を含む。水溶性の溶液剤や懸濁剤には、希釈剤として例えば注射用蒸留水、生理用食塩水などが含まれる。非水溶性の溶液剤、懸濁剤の希釈剤としてはプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート80等を含む。該組成物はさらに温潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、溶解乃至溶解補助剤、防腐剤などを含んでいてもよい。組成物は例えばバクテリア保留フィルターを通す濾過、殺菌剤の配合、または照射によって無菌化される。また、無菌の固体組成物を製造し、使用に際し無菌水その他の無菌用注射用媒体に溶解し使用することもできる。

投与量は前記スクリーニング法により選択された有効成分の活性の強さ、症状、投与対象の年齢、性別等を考慮して適宜決定される。

#### 【0036】

##### 【実施例】

以下、本発明を更に具体的に開示するために、実施例を記載するが、本発明は実施例に限定されるものではない。なお、特に断りがない場合は、公知の方法 (Maniatis, T. et al. (1982) : "Molecular Cloning - A Laboratory Manual" Cold Spring Harbor Laboratory, NY) に従って実施可能である。

#### 【0037】

(実施例1) 新規G蛋白質共役型レセプターファミリー蛋白質をコードする遺伝

## 子の単離

本発明のG蛋白質共役型レセプターファミリー蛋白質 (SREB1、SREB2、SREB3) をコードする全長cDNAは、ヒト脳由来のpoly A+ RNA (Clontech) をtemplateとしてRT-PCRにより取得した。

新規G蛋白質共役型レセプターSREB1の増幅にはForward primerとして5'-AAAATCTAGA CGCGATGGCGAACGCGAGCGA-3' (配列番号: 7) 、reverse primerとして5'-AAATCTAGA GTCTATGTGGCGGGGCCTCCC-3' (配列番号: 8) を用いた (それぞれの5'末端にはXbaI siteが付加してある)。RT-PCRはPfu DNA polymerase (Stratagene) を用い5% formamide存在下で98°C (20秒) / 64°C (30秒) / 74°C (3分) のサイクルを34回繰り返した。その結果、約1.2 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をXbaIで消化した後、pCEP4 plasmid (Invitrogen) を用いてクローニングした。pCEP4 plasmidは、動物細胞において強力なプロモーター活性を示すCMVプロモーターを持っているので、動物細胞に組み換え蛋白質を発現させるのに使用できる。得られたクローンの塩基配列はdideoxy terminator法によりABI377 DNA sequencer (Applied Biosystems) を用いて解析した。明らかになった配列を配列表 配列番号: 1に示す。

同配列は1125 baseのopen reading frame (配列番号: 1の第1番目から第1125番目) を持っている。Open reading frameから予測されるアミノ酸配列 (375アミノ酸) を配列表 配列番号: 2に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型レセプターの特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型レセプターをコードすることが解った。

## 【0038】

新規G蛋白質共役型レセプターSREB2の増幅にはForward primerとして5'-AAAATCTAGA TCTATGGCGAACTATAGCCATGCA-3' (配列番号: 9) 、reverse primerとして5'-AAATCTAGA AAGGCTAAAGATTACAGATGCTCC-3' (配列番号: 10) を用いた (それぞれの5'末端にはXbaI siteが付加してある)。RT-PCRはPfu DNA polymerase (Stratagene) を用い96°C (20秒) / 54°C (30秒) / 74°C (3分) のサイクルを34回繰り返した。その結果、約1.2 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をXbaIで消化した後、pCEP4 plasmid (Invitrogen) を用いてクローニングした。得られた

クローンの塩基配列はdideoxy terminator法によりABI377 DNA Sequencer (Applied Biosystems) を用いて解析した。明らかになった配列を配列表 配列番号：3に示す。

同配列は1110 baseのopen reading frame (配列番号：3の第1番目から第1110番目) を持っている。Open reading frameから予測されるアミノ酸配列 (370アミノ酸) を配列表 配列番号：4に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型レセプターの特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型レセプターをコードすることが解った。

#### 【0039】

新規G蛋白質共役型レセプターSREB3の増幅にはForward primerとして5'-AAAATCTAGA GTATGGCCAACACTACCCGGAGAG-3' (配列番号：11) 、reverse primerとして5'-AAAATCTAGA CCTGTCTGCCTACCAGCCTGC-3' (配列番号：12) を用いた (それぞれの5'末端にはXbaI siteが付加してある)。RT-PCRはPfu DNA polymerase (Stratagene) を用い5% formamide存在下で98°C (20秒) / 62°C (30秒) / 74°C (3分) のサイクルを34回繰り返した。その結果、約1.2 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をXbaIで消化した後、pCEP4 plasmid (Invitrogen) を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はdideoxy terminator法によりABI377 DNA Sequencer (Applied Biosystems) を用いて解析した。明らかになった配列を配列表 配列番号：5に示す。

同配列は1119 baseのopen reading frame (配列番号：5の第1番目から第1119番目) を持っている。Open reading frameから予測されるアミノ酸配列 (373アミノ酸) を配列表 配列番号：6に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型レセプターの特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型レセプターをコードすることが解った。

#### 【0040】

新規G蛋白質共役型レセプターSREB1、SREB2、SREB3の既存のG蛋白質共役型レセプターとのホモロジーはそれぞれアミノ酸配列で25%以下である。一方、SREB1とSREB2のホモロジーは52%、SREB1とSREB3のホモロジーは52%、SREB2とSREB3のホモロジーは63%と既存のG蛋白質共役型レセプターとのホモロジーに比べ有

意に高い（図1）。このことは本発明のG蛋白質共役型レセプターSREB1、SREB2、SREB3が既存のG蛋白質共役型レセプターとは独立した新規なG蛋白質共役型レセプターファミリーを形成していることを示している。

#### 【0041】

（実施例2）組織におけるヒト新規G蛋白質共役型レセプターファミリー遺伝子の発現分布

*Northern blot hybridization*法により本発明のG蛋白質共役型レセプター遺伝子の発現分布を解析した。SREB1のProbeにはcDNA断片（配列番号：1の第722番目から第1054番目）を用いた。ヒトの各臓器由来のpoly A+ RNA ( $2\ \mu\text{g}$ ) をプロットしたメンブレン（Clontech）とprobeのhybridizationは50% formamide、5  $\times$  SSPE、10  $\times$  Denhardt's溶液、2% SDS、100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  変性サケ精子DNAを含む溶液中で、42°C（18時間）で行った。メンブレンは、最終的に0.2  $\times$  SSC、0.1% SDSを含む溶液で2回（65°C、30分）洗浄した。ヒトの各臓器（心臓、脳、胎盤、肺、肝臓、骨格筋、腎臓、脾臓、脾臓、胸腺、前立腺、精巣、卵巣、小腸、大腸、末梢血白血球）について*Northern*解析を行ったところ、図2に示すように3 kbのmRNAが脳、卵巣、精巣、心臓、前立腺で、3 kbと2.3 kbのmRNAが末梢血白血球で検出された。また、脾臓、小腸でも3 kbのシグナルが若干検出された。さらに、ヒト脳の各領域（扁桃体、尾状核、脳梁、海馬、黒質、視床下核、視床、小脳、大脳皮質、延髄、脊髄、大脳皮質後頭葉、大脳皮質前頭葉、大脳皮質側頭葉、被殼）についても*Northern*解析を行った。本発明のG蛋白質共役型レセプターSREB1遺伝子の3 kbのmRNAは調べた全てのヒト脳領域で検出され、ヒト脳内で広範に発現していることがわかった（図3）。

#### 【0042】

SREB2のProbeにはcDNA断片（配列番号：3の第558番目から第888番目）を用いた。上記同条件で*Northern*解析を行ったところ、図4に示すように3.2 kbのmRNAが脳で、2.4 kb、3.5 kb、6.3 kbのmRNAが精巣で検出された。また、3.5 kbのシグナルが胎盤、脾臓で、3.2 kbのシグナルが小腸で若干検出された。本発明のG蛋白質共役型レセプターSREB2遺伝子の3.2 kbのmRNAは脳の中でも扁桃体、尾状核、海馬、黒質、視床下核、視床、小脳、大脳皮質群、被殼で多く検出され、脳

梁、延髄、脊髄ではあまり検出されなかった。また、脳各領域で7.8 kbのシグナルが若干検出された。

#### 【0043】

SREB3のProbeにはcDNA断片（配列番号：5の第1番目から第652番目）を用いた。上記同条件でNorthern解析を行ったところ、4 kb、5.1 kbのmRNAが脳で、4 kb、5.1 kb、9.7 kbのmRNAが卵巣で検出された。本発明のG蛋白質共役型レセプターSREB3遺伝子のmRNAは脳の各領域で4 kbをメインに5.1 kb、若干9.7 kbのシグナルとして検出され、4 kbのmRNAは扁桃体、海馬、視床下核、小脳、大脳皮質で、5.1 kbのmRNAは黒質、視床下核、脊髄で比較的多く検出された。

以上の結果より、本発明のG蛋白質共役型レセプターファミリー遺伝子SREB1、SREB2、SREB3は中枢神経系、泌尿器生殖器系を中心に発現していることが示された。

#### 【0044】

##### 【発明の効果】

本発明により、中枢神経系に発現している新規なG蛋白質共役型レセプターファミリー蛋白質SREB1、SREB2、SREB3、該蛋白質をコードする遺伝子、該遺伝子を含むベクター、該ベクターを含む宿主細胞、該G蛋白質共役型レセプター蛋白質の製造方法が提供された。

また、本発明のG蛋白質共役型レセプター蛋白質と被験薬を接触させることにより、該G蛋白質共役型レセプター蛋白質の活性を修飾する化合物およびペプチドをスクリーニングし、新たな医薬、特に、新たな中枢性疾患治療剤をスクリーニングすることを可能にした。

#### 【0045】

本発明の中枢神経系に発現しているG蛋白質共役型レセプター蛋白質の活性を特異的に修飾する化合物およびペプチドを有効成分とする医薬は、中枢性疾患の治療薬剤等としての有用性が期待できる。また、本発明のG蛋白質共役型レセプターファミリー蛋白質は中枢神経系のみならず、泌尿器生殖器系で発現していることから、その活性を特異的に修飾する化合物およびペプチドを有効成分とする医薬は泌尿器生殖器系に関わる疾患の治療薬剤等としての有用性が期待できる。

また、本発明のG蛋白質共役型レセプターSREB1蛋白質は中枢神経系、泌尿器生殖器系に加え、心臓、末梢白血球で発現していることからSREB1蛋白質の活性を特異的に修飾する化合物およびペプチドを有効成分とする医薬は中枢性疾患、泌尿器生殖器系に関わる疾患に加え循環器系疾患、免疫炎症系疾患の治療薬剤等としての有用性が期待できる。

## 【0046】

## 【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、SREB1、SREB2、SREB3のアミノ酸配列のアラインメントを示す。

【図2】 図2は、SREB1のヒト臓器の各領域についてのノーザン解析の結果を示す。

【図3】 図3は、SREB1のヒト脳の各領域についてのノーザン解析の結果を示す。

【図4】 図4は、SREB2のヒト臓器の各領域についてのノーザン解析の結果を示す。

## 【0047】

## [配列表]

配列番号： 1

配列の長さ： 1128

配列の型： 核酸

鎖の数： 二本鎖

トポロジー： 直鎖状

配列の種類： cDNA to mRNA

配列の特徴

特徴を表す記号： CDS

存在位置： 1 .. 1125

特徴を決定した方法： P

配列

ATG GCG AAC GCG AGC GAG CCG GGT GGC AGC GGC GGC GGC GAG GCG GCC

48

Met Ala Asn Ala Ser Glu Pro Gly Gly Ser Gly Gly Glu Ala Ala  
 1 5 10 15  
 GCC CTG GGC CTC AAG CTG GCC ACG CTC AGC CTG CTG CTG TGC GTG AGC 96  
 Ala Leu Gly Leu Lys Leu Ala Thr Leu Ser Leu Leu Leu Cys Val Ser  
 20 25 30  
 CTA GCG GGC AAC GTG CTG TTC GCG CTG CTG ATC GTG CGG GAG CGC AGC 144  
 Leu Ala Gly Asn Val Leu Phe Ala Leu Leu Ile Val Arg Glu Arg Ser  
 35 40 45  
 CTG CAC CGC GCC CCG TAC TAC CTG CTG CTC GAC CTG TGC CTG GCC GAC 192  
 Leu His Arg Ala Pro Tyr Tyr Leu Leu Leu Asp Leu Cys Leu Ala Asp  
 50 55 60  
 GGG CTG CGC GCG CTC GCC TGC CTC CCG GCC GTC ATG CTG GCG GCG CGG 240  
 Gly Leu Arg Ala Leu Ala Cys Leu Pro Ala Val Met Leu Ala Ala Arg  
 65 70 75 80  
 CGT GCG GCG GCC GCG GCG GGG GCG CCG CCG GGC GCG CTG GGC TGC AAG 288  
 Arg Ala Ala Ala Ala Gly Ala Pro Pro Gly Ala Leu Gly Cys Lys  
 85 90 95  
 CTG CTC GCC TTC CTG GCC GCG CTC TTC TGC TTC CAC GCC GCC TTC CTG 336  
 Leu Leu Ala Phe Leu Ala Ala Leu Phe Cys Phe His Ala Ala Phe Leu  
 100 105 110  
 CTG CTG GGC GTG GGC GTC ACC CGC TAC CTG GCC ATC GCG CAC CAC CGC 384  
 Leu Leu Gly Val Gly Val Thr Arg Tyr Leu Ala Ile Ala His His Arg  
 115 120 125  
 TTC TAT GCA GAG CGC CTG GCC GGC TGG CCG TGC GCC GCC ATG CTG GTG 432  
 Phe Tyr Ala Glu Arg Leu Ala Gly Trp Pro Cys Ala Ala Met Leu Val  
 130 135 140  
 TGC GCC GCC TGG GCG CTG GCG CTG GCC GCG GCC TTC CCG CCA GTG CTG 480  
 Cys Ala Ala Trp Ala Leu Ala Leu Ala Ala Phe Pro Pro Val Leu  
 145 150 155 160

GAC GGC GGT GGC GAC GAC GAG GAC GCG CCG TGC GCC CTG GAG CAG CGG	528		
Asp Gly Gly Gly Asp Asp Glu Asp Ala Pro Cys Ala Leu Glu Gln Arg			
165	170	175	
CCC GAC GGC GCC CCC GGC GCG CTG GGC TTC CTG CTG CTG CTG GCC GTG	576		
Pro Asp Gly Ala Pro Gly Ala Leu Gly Phe Leu Leu Leu Ala Val			
180	185	190	
GTG GTG GGC GCC ACG CAC CTC GTC TAC CTC CGC CTG CTC TTC TTC ATC	624		
Val Val Gly Ala Thr His Leu Val Tyr Leu Arg Leu Leu Phe Phe Ile			
195	200	205	
CAC GAC CGC CGC AAG ATG CGG CCC GCG CGC CTG GTG CCC GCC GTC AGC	672		
His Asp Arg Arg Lys Met Arg Pro Ala Arg Leu Val Pro Ala Val Ser			
210	215	220	
CAC GAC TGG ACC TTC CAC GGC CCG GGC ACC GGC CAG GCG GCC GCC	720		
His Asp Trp Thr Phe His Gly Pro Gly Ala Thr Gly Gln Ala Ala Ala			
225	230	235	240
AAC TGG ACG GCG GGC TTC GGC CGC GGG CCC ACG CCG CCC GCG CTT GTG	768		
Asn Trp Thr Ala Gly Phe Gly Arg Gly Pro Thr Pro Pro Ala Leu Val			
245	250	255	
GGC ATC CGG CCC GCA GGG CCG GGC CGC GGC GCG CGC CGC CTC CTC GTG	816		
Gly Ile Arg Pro Ala Gly Pro Gly Arg Gly Ala Arg Arg Leu Leu Val			
260	265	270	
CTG GAA GAA TTC AAG ACG GAG AAG AGG CTG TGC AAG ATG TTC TAC GCC	864		
Leu Glu Glu Phe Lys Thr Glu Lys Arg Leu Cys Lys Met Phe Tyr Ala			
275	280	285	
GTC ACG CTG CTC TTC CTG CTC CTC TGG GGG CCC TAC GTC GTG GCC AGC	912		
Val Thr Leu Leu Phe Leu Leu Trp Gly Pro Tyr Val Val Ala Ser			
290	295	300	
TAC CTG CGG GTC CTG GTG CGG CCC GGC GCC GTC CCC CAG GCC TAC CTG	960		
Tyr Leu Arg Val Leu Val Arg Pro Gly Ala Val Pro Gln Ala Tyr Leu			

305	310	315	320	
ACG GCC TCC GTG TGG CTG ACC TTC GCG CAG GCC GGC ATC AAC CCC GTC				1008
Thr Ala Ser Val Trp Leu Thr Phe Ala Gln Ala Gly Ile Asn Pro Val				
325	330	335		
GTG TGC TTC CTC TTC AAC AGG GAG CTG AGG GAC TGC TTC AGG GCC CAG				1056
Val Cys Phe Leu Phe Asn Arg Glu Leu Arg Asp Cys Phe Arg Ala Gln				
340	345	350		
TTC CCC TGC TGC CAG AGC CCC CGG ACC ACC CAG GCG ACC CAT CCC TGC				1104
Phe Pro Cys Cys Gln Ser Pro Arg Thr Thr Gln Ala Thr His Pro Cys				
355	360	365		
GAC CTG AAA GGC ATT GGT TTA TGA				1128
Asp Leu Lys Gly Ile Gly Leu				
370	375			

配列番号 : 2

配列の長さ : 375

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

配列

Met Ala Asn Ala Ser Glu Pro Gly Gly Ser Gly Gly Gly Glu Ala Ala			
1	5	10	15
Ala Leu Gly Leu Lys Leu Ala Thr Leu Ser Leu Leu Leu Cys Val Ser			
20	25	30	
Leu Ala Gly Asn Val Leu Phe Ala Leu Leu Ile Val Arg Glu Arg Ser			
35	40	45	
Leu His Arg Ala Pro Tyr Tyr Leu Leu Leu Asp Leu Cys Leu Ala Asp			
50	55	60	
Gly Leu Arg Ala Leu Ala Cys Leu Pro Ala Val Met Leu Ala Ala Arg			
65	70	75	80

Arg Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Pro Pro Gly Ala Leu Gly Cys Lys  
 85 90 95  
 Leu Leu Ala Phe Leu Ala Ala Leu Phe Cys Phe His Ala Ala Phe Leu  
 100 105 110  
 Leu Leu Gly Val Gly Val Thr Arg Tyr Leu Ala Ile Ala His His Arg  
 115 120 125  
 Phe Tyr Ala Glu Arg Leu Ala Gly Trp Pro Cys Ala Ala Met Leu Val  
 130 135 140  
 Cys Ala Ala Trp Ala Leu Ala Leu Ala Ala Phe Pro Pro Val Leu  
 145 150 155 160  
 Asp Gly Gly Gly Asp Asp Glu Asp Ala Pro Cys Ala Leu Glu Gln Arg  
 165 170 175  
 Pro Asp Gly Ala Pro Gly Ala Leu Gly Phe Leu Leu Leu Ala Val  
 180 185 190  
 Val Val Gly Ala Thr His Leu Val Tyr Leu Arg Leu Leu Phe Phe Ile  
 195 200 205  
 His Asp Arg Arg Lys Met Arg Pro Ala Arg Leu Val Pro Ala Val Ser  
 210 215 220  
 His Asp Trp Thr Phe His Gly Pro Gly Ala Thr Gly Gln Ala Ala Ala  
 225 230 235 240  
 Asn Trp Thr Ala Gly Phe Gly Arg Gly Pro Thr Pro Pro Ala Leu Val  
 245 250 255  
 Gly Ile Arg Pro Ala Gly Pro Gly Arg Gly Ala Arg Arg Leu Leu Val  
 260 265 270  
 Leu Glu Glu Phe Lys Thr Glu Lys Arg Leu Cys Lys Met Phe Tyr Ala  
 275 280 285  
 Val Thr Leu Leu Phe Leu Leu Trp Gly Pro Tyr Val Val Ala Ser  
 290 295 300  
 Tyr Leu Arg Val Leu Val Arg Pro Gly Ala Val Pro Gln Ala Tyr Leu

305	310	315	320
Thr Ala Ser Val Trp Leu Thr Phe Ala Gln Ala Gly Ile Asn Pro Val			
325	330	335	
Val Cys Phe Leu Phe Asn Arg Glu Leu Arg Asp Cys Phe Arg Ala Gln			
340	345	350	
Phe Pro Cys Cys Gln Ser Pro Arg Thr Thr Gln Ala Thr His Pro Cys			
355	360	365	
Asp Leu Lys Gly Ile Gly Leu			
370	375		

配列番号 : 3

配列の長さ : 1113

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

配列の特徴

特徴を表す記号 : CDS

存在位置 : 1 .. 1110

特徴を決定した方法 : P

配 列

ATG GCG AAC TAT AGC CAT GCA GCT GAC AAC ATT TTG CAA AAT CTC TCG	48
Met Ala Asn Tyr Ser His Ala Ala Asp Asn Ile Leu Gln Asn Leu Ser	
1 5 10 15	
CCT CTA ACA GCC TTT CTG AAA CTG ACT TCC TTG GGT TTC ATA ATA GGA	96
Pro Leu Thr Ala Phe Leu Lys Leu Thr Ser Leu Gly Phe Ile Ile Gly	
20 25 30	
GTC AGC GTG GTG GGC AAC CTC CTG ATC TCC ATT TTG CTA GTG AAA GAT	144
Val Ser Val Val Gly Asn Leu Leu Ile Ser Ile Leu Leu Val Lys Asp	
35 40 45	

AAG ACC TTG CAT AGA GCA CCT TAC TAC TTC CTG TTG GAT CTT TGC TGT	192		
Lys Thr Leu His Arg Ala Pro Tyr Tyr Phe Leu Leu Asp Leu Cys Cys			
50	55	60	
TCA GAT ATC CTC AGA TCT GCA ATT TGT TTC CCA TTT GTG TTC AAC TCT	240		
Ser Asp Ile Leu Arg Ser Ala Ile Cys Phe Pro Phe Val Phe Asn Ser			
65	70	75	80
GTC AAA AAT GGC TCT ACC TGG ACT TAT GGG ACT CTG ACT TGC AAA GTG	288		
Val Lys Asn Gly Ser Thr Trp Thr Tyr Gly Thr Leu Thr Cys Lys Val			
85	90	95	
ATT GCC TTT CTG GGG GTT TTG TCC TGT TTC CAC ACT GCT TTC ATG CTC	336		
Ile Ala Phe Leu Gly Val Leu Ser Cys Phe His Thr Ala Phe Met Leu			
100	105	110	
TTC TGC ATC AGT GTC ACC AGA TAC TTA GCT ATC GCC CAT CAC CGC TTC	384		
Phe Cys Ile Ser Val Thr Arg Tyr Leu Ala Ile Ala His His Arg Phe			
115	120	125	
TAT ACA AAG AGG CTG ACC TTT TGG ACG TGT CTG GCT GTG ATC TGT ATG	432		
Tyr Thr Lys Arg Leu Thr Phe Trp Thr Cys Leu Ala Val Ile Cys Met			
130	135	140	
GTC TGG ACT CTG TCT GTG GCC ATG GCA TTT CCC CCG GTT TTA GAC GTG	480		
Val Trp Thr Leu Ser Val Ala Met Ala Phe Pro Pro Val Leu Asp Val			
145	150	155	160
GGC ACT TAC TCA TTC ATT AGG GAG GAA GAT CAA TGC ACC TTC CAA CAC	528		
Gly Thr Tyr Ser Phe Ile Arg Glu Glu Asp Gln Cys Thr Phe Gln His			
165	170	175	
CGC TCC TTC AGG GCT AAT GAT TCC TTA GGA TTT ATG CTG CTT CTT GCT	576		
Arg Ser Phe Arg Ala Asn Asp Ser Leu Gly Phe Met Leu Leu Ala			
180	185	190	
CTC ATC CTC CTA GCC ACA CAG CTT GTC TAC CTC AAG CTG ATA TTT TTC	624		
Leu Ile Leu Leu Ala Thr Gln Leu Val Tyr Leu Lys Leu Ile Phe Phe			

195	200	205	
GTC CAC GAT CGA AGA AAA ATG AAG CCA GTC CAG TTT GTC GCA GCA GTC			672
Val His Asp Arg Arg Lys Met Lys Pro Val Gln Phe Val Ala Ala Val			
210	215	220	
AGC CAG AAC TGG ACT TTT CAT GGT CCT GGA GCC AGT GGC CAG GCA GCT			720
Ser Gln Asn Trp Thr Phe His Gly Pro Gly Ala Ser Gly Gln Ala Ala			
225	230	235	240
GCC AAT TGG CTA GCA GGA TTT GGA AGG GGT CCC ACA CCA CCC ACC TTG			768
Ala Asn Trp Leu Ala Gly Phe Gly Arg Gly Pro Thr Pro Pro Thr Leu			
245	250	255	
CTG GGC ATC AGG CAA AAT GCA AAC ACC ACA GGC AGA AGA AGG CTA TTG			816
Leu Gly Ile Arg Gln Asn Ala Asn Thr Thr Gly Arg Arg Arg Leu Leu			
260	265	270	
GTC TTA GAC GAG TTC AAA ATG GAG AAA AGA ATC AGC AGA ATG TTC TAT			864
Val Leu Asp Glu Phe Lys Met Glu Lys Arg Ile Ser Arg Met Phe Tyr			
275	280	285	
ATA ATG ACT TTT CTG TTT CTA ACC TTG TGG GGC CCC TAC CTG GTG GCC			912
Ile Met Thr Phe Leu Phe Leu Thr Leu Trp Gly Pro Tyr Leu Val Ala			
290	295	300	
TGT TAT TGG AGA GTT TTT GCA AGA GGG CCT GTA GTA CCA GGG GGA TTT			960
Cys Tyr Trp Arg Val Phe Ala Arg Gly Pro Val Val Pro Gly Gly Phe			
305	310	315	320
CTA ACA GCT GCT GTC TGG ATG AGT TTT GCC CAA GCA GGA ATC AAT CCT			1008
Leu Thr Ala Ala Val Trp Met Ser Phe Ala Gln Ala Gly Ile Asn Pro			
325	330	335	
TTT GTC TGC ATT TTC TCA AAC AGG GAG CTG AGG CGC TGT TTC AGC ACA			1056
Phe Val Cys Ile Phe Ser Asn Arg Glu Leu Arg Arg Cys Phe Ser Thr			
340	345	350	
ACC CTT CTT TAC TGC AGA AAA TCC AGG TTA CCA AGG GAA CCT TAC TGT			1104

Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Lys Ser Arg Leu Pro Arg Glu Pro Tyr Cys

355

360

365

GTT ATA TGA

1113

Val Ile

370

配列番号 : 4

配列の長さ : 370

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

配 列

Met Ala Asn Tyr Ser His Ala Ala Asp Asn Ile Leu Gln Asn Leu Ser

1

5

10

15

Pro Leu Thr Ala Phe Leu Lys Leu Thr Ser Leu Gly Phe Ile Ile Gly

20

25

30

Val Ser Val Val Gly Asn Leu Leu Ile Ser Ile Leu Leu Val Lys Asp

35

40

45

Lys Thr Leu His Arg Ala Pro Tyr Tyr Phe Leu Leu Asp Leu Cys Cys

50

55

60

Ser Asp Ile Leu Arg Ser Ala Ile Cys Phe Pro Phe Val Phe Asn Ser

65

70

75

80

Val Lys Asn Gly Ser Thr Trp Thr Tyr Gly Thr Leu Thr Cys Lys Val

85

90

95

Ile Ala Phe Leu Gly Val Leu Ser Cys Phe His Thr Ala Phe Met Leu

100

105

110

Phe Cys Ile Ser Val Thr Arg Tyr Leu Ala Ile Ala His His Arg Phe

115

120

125

Tyr Thr Lys Arg Leu Thr Phe Trp Thr Cys Leu Ala Val Ile Cys Met

130

135

140

Val Trp Thr Leu Ser Val Ala Met Ala Phe Pro Pro Val Leu Asp Val  
 145 150 155 160  
 Gly Thr Tyr Ser Phe Ile Arg Glu Glu Asp Gln Cys Thr Phe Gln His  
 165 170 175  
 Arg Ser Phe Arg Ala Asn Asp Ser Leu Gly Phe Met Leu Leu Ala  
 180 185 190  
 Leu Ile Leu Leu Ala Thr Gln Leu Val Tyr Leu Lys Leu Ile Phe Phe  
 195 200 205  
 Val His Asp Arg Arg Lys Met Lys Pro Val Gln Phe Val Ala Ala Val  
 210 215 220  
 Ser Gln Asn Trp Thr Phe His Gly Pro Gly Ala Ser Gly Gln Ala Ala  
 225 230 235 240  
 Ala Asn Trp Leu Ala Gly Phe Gly Arg Gly Pro Thr Pro Pro Thr Leu  
 245 250 255  
 Leu Gly Ile Arg Gln Asn Ala Asn Thr Thr Gly Arg Arg Arg Leu Leu  
 260 265 270  
 Val Leu Asp Glu Phe Lys Met Glu Lys Arg Ile Ser Arg Met Phe Tyr  
 275 280 285  
 Ile Met Thr Phe Leu Phe Leu Thr Leu Trp Gly Pro Tyr Leu Val Ala  
 290 295 300  
 Cys Tyr Trp Arg Val Phe Ala Arg Gly Pro Val Val Pro Gly Gly Phe  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Ala Ala Val Trp Met Ser Phe Ala Gln Ala Gly Ile Asn Pro  
 325 330 335  
 Phe Val Cys Ile Phe Ser Asn Arg Glu Leu Arg Arg Cys Phe Ser Thr  
 340 345 350  
 Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Lys Ser Arg Leu Pro Arg Glu Pro Tyr Cys  
 355 360 365  
 Val Ile

370

配列番号 : 5

配列の長さ : 1122

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

配列の特徴

特徴を表す記号 : CDS

存在位置 : 1 .. 1119

特徴を決定した方法 : P

配 列

ATG	GCC	AAC	ACT	ACC	GGA	GAG	CCT	GAG	GAG	GTG	AGC	GGC	GCT	CTG	TCC	48
Met	Ala	Asn	Thr	Thr	Gly	Glu	Pro	Glu	Glu	Val	Ser	Gly	Ala	Leu	Ser	
1	5							10					15			
CCA	CCG	TCC	GCA	TCA	GCT	TAT	GTG	AAG	CTG	GTA	CTG	CTG	GGA	CTG	ATT	96
Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Ala	Tyr	Val	Lys	Leu	Val	Leu	Leu	Gly	Leu	Ile	
20								25					30			
ATG	TGC	GTG	AGC	CTG	GCG	GGT	AAC	GCC	ATC	TTG	TCC	CTG	CTG	GTG	CTC	144
Met	Cys	Val	Ser	Leu	Ala	Gly	Asn	Ala	Ile	Leu	Ser	Leu	Leu	Val	Leu	
35								40					45			
AAG	GAG	CGT	GCC	CTG	CAC	AAG	GCT	CCT	TAC	TAC	TTC	CTG	CTG	GAC	CTG	192
Lys	Glu	Arg	Ala	Leu	His	Lys	Ala	Pro	Tyr	Tyr	Phe	Leu	Leu	Asp	Leu	
50								55					60			
TGC	CTG	GCC	GAT	GGC	ATA	CGC	TCT	GCC	GTC	TGC	TTC	CCC	TTT	GTG	CTG	240
Cys	Leu	Ala	Asp	Gly	Ile	Arg	Ser	Ala	Val	Cys	Phe	Pro	Phe	Val	Leu	
65								70					75			80
GCT	TCT	GTG	CGC	CAC	GGC	TCT	TCA	TGG	ACC	TTC	AGT	GCA	CTC	AGC	TGC	288
Ala	Ser	Val	Arg	His	Gly	Ser	Ser	Trp	Thr	Phe	Ser	Ala	Leu	Ser	Cys	

85	90	95	
AAG ATT GTG GCC TTT ATG GCC GTG CTC TTT TGC TTC CAT GCG GCC TTC			336
Lys Ile Val Ala Phe Met Ala Val Leu Phe Cys Phe His Ala Ala Phe			
100	105	110	
ATG CTG TTC TGC ATC AGC GTC ACC CGC TAC ATG GCC ATC GCC CAC CAC			384
Met Leu Phe Cys Ile Ser Val Thr Arg Tyr Met Ala Ile Ala His His			
115	120	125	
CGC TTC TAC GCC AAG CGC ATG ACA CTC TGG ACA TGC GCG GCT GTC ATC			432
Arg Phe Tyr Ala Lys Arg Met Thr Leu Trp Thr Cys Ala Ala Val Ile			
130	135	140	
TGC ATG GCC TGG ACC CTG TCT GTG GCC ATG GCC TTC CCA CCT GTC TTT			480
Cys Met Ala Trp Thr Leu Ser Val Ala Met Ala Phe Pro Pro Val Phe			
145	150	155	160
GAC GTG GGC ACC TAC AAG TTT ATT CGG GAG GAG GAC CAG TGC ATC TTT			528
Asp Val Gly Thr Tyr Lys Phe Ile Arg Glu Glu Asp Gln Cys Ile Phe			
165	170	175	
GAG CAT CGC TAC TTC AAG GCC AAT GAC ACG CTG GGC TTC ATG CTT ATG			576
Glu His Arg Tyr Phe Lys Ala Asn Asp Thr Leu Gly Phe Met Leu Met			
180	185	190	
TTG GCT GTG CTC ATG GCA GCT ACC CAT GCT GTC TAC GGC AAG CTG CTC			624
Leu Ala Val Leu Met Ala Ala Thr His Ala Val Tyr Gly Lys Leu Leu			
195	200	205	
CTC TTC GAG TAT CGT CAC CGC AAG ATG AAG CCA GTG CAG ATG GTG CCA			672
Leu Phe Glu Tyr Arg His Arg Lys Met Lys Pro Val Gln Met Val Pro			
210	215	220	
GCC ATC AGC CAG AAC TGG ACA TTC CAT GGT CCC GGG GCC ACC GGC CAG			720
Ala Ile Ser Gln Asn Trp Thr Phe His Gly Pro Gly Ala Thr Gly Gln			
225	230	235	240
GCT GCT GCC AAC TGG ATC GCC GGC TTT GGC CGT GGG CCC ATG CCA CCA			768

Ala Ala Ala Asn Trp Ile Ala Gly Phe Gly Arg Gly Pro Met Pro Pro  
 245 250 255  
 ACC CTG CTG GGT ATC CGG CAG AAT GGG CAT GCA GCC AGC CGG CGG CTA 816  
 Thr Leu Leu Gly Ile Arg Gln Asn Gly His Ala Ala Ser Arg Arg Leu  
 260 265 270  
 CTG GGC ATG GAC GAG GTC AAG GGT GAA AAG CAG CTG GGC CGC ATG TTC 864  
 Leu Gly Met Asp Glu Val Lys Gly Glu Lys Gln Leu Gly Arg Met Phe  
 275 280 285  
 TAC GCG ATC ACA CTG CTC TTT CTG CTC CTC TGG TCA CCC TAC ATC GTG 912  
 Tyr Ala Ile Thr Leu Leu Phe Leu Leu Trp Ser Pro Tyr Ile Val  
 290 295 300  
 GCC TGC TAC TGG CGA GTG TTT GTG AAA GCC TGT GCT GTG CCC CAC CGC 960  
 Ala Cys Tyr Trp Arg Val Phe Val Lys Ala Cys Ala Val Pro His Arg  
 305 310 315 320  
 TAC CTG GCC ACT GCT GTT TGG ATG AGC TTC GCC CAG GCT GCC GTC AAC 1008  
 Tyr Leu Ala Thr Ala Val Trp Met Ser Phe Ala Gln Ala Ala Val Asn  
 325 330 335  
 CCA ATT GTC TGC TTC CTG CTC AAC AAG GAC CTC AAG AAG TGC CTG AGG 1056  
 Pro Ile Val Cys Phe Leu Leu Asn Lys Asp Leu Lys Lys Cys Leu Arg  
 340 345 350  
 ACT CAC GCC CCC TGC TGG GGC ACA GGA GGT GCC CCG GCT CCC AGA GAA 1104  
 Thr His Ala Pro Cys Trp Gly Thr Gly Gly Ala Pro Ala Pro Arg Glu  
 355 360 365  
 CCC TAC TGT GTC ATG TGA 1122  
 Pro Tyr Cys Val Met  
 370

配列番号 : 6

配列の長さ : 373

配列の型 : アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

## 配列

Met Ala Asn Thr Thr Gly Glu Pro Glu Glu Val Ser Gly Ala Leu Ser  
 1 5 10 15  
 Pro Pro Ser Ala Ser Ala Tyr Val Lys Leu Val Leu Leu Gly Leu Ile  
 20 25 30  
 Met Cys Val Ser Leu Ala Gly Asn Ala Ile Leu Ser Leu Leu Val Leu  
 35 40 45  
 Lys Glu Arg Ala Leu His Lys Ala Pro Tyr Tyr Phe Leu Leu Asp Leu  
 50 55 60  
 Cys Leu Ala Asp Gly Ile Arg Ser Ala Val Cys Phe Pro Phe Val Leu  
 65 70 75 80  
 Ala Ser Val Arg His Gly Ser Ser Trp Thr Phe Ser Ala Leu Ser Cys  
 85 90 95  
 Lys Ile Val Ala Phe Met Ala Val Leu Phe Cys Phe His Ala Ala Phe  
 100 105 110  
 Met Leu Phe Cys Ile Ser Val Thr Arg Tyr Met Ala Ile Ala His His  
 115 120 125  
 Arg Phe Tyr Ala Lys Arg Met Thr Leu Trp Thr Cys Ala Ala Val Ile  
 130 135 140  
 Cys Met Ala Trp Thr Leu Ser Val Ala Met Ala Phe Pro Pro Val Phe  
 145 150 155 160  
 Asp Val Gly Thr Tyr Lys Phe Ile Arg Glu Glu Asp Gln Cys Ile Phe  
 165 170 175  
 Glu His Arg Tyr Phe Lys Ala Asn Asp Thr Leu Gly Phe Met Leu Met  
 180 185 190  
 Leu Ala Val Leu Met Ala Ala Thr His Ala Val Tyr Gly Lys Leu Leu  
 195 200 205

Leu Phe Glu Tyr Arg His Arg Lys Met Lys Pro Val Gln Met Val Pro  
 210 215 220  
 Ala Ile Ser Gln Asn Trp Thr Phe His Gly Pro Gly Ala Thr Gly Gln  
 225 230 235 240  
 Ala Ala Ala Asn Trp Ile Ala Gly Phe Gly Arg Gly Pro Met Pro Pro  
 245 250 255  
 Thr Leu Leu Gly Ile Arg Gln Asn Gly His Ala Ala Ser Arg Arg Leu  
 260 265 270  
 Leu Gly Met Asp Glu Val Lys Gly Glu Lys Gln Leu Gly Arg Met Phe  
 275 280 285  
 Tyr Ala Ile Thr Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Ser Pro Tyr Ile Val  
 290 295 300  
 Ala Cys Tyr Trp Arg Val Phe Val Lys Ala Cys Ala Val Pro His Arg  
 305 310 315 320  
 Tyr Leu Ala Thr Ala Val Trp Met Ser Phe Ala Gln Ala Ala Val Asn  
 325 330 335  
 Pro Ile Val Cys Phe Leu Leu Asn Lys Asp Leu Lys Lys Cys Leu Arg  
 340 345 350  
 Thr His Ala Pro Cys Trp Gly Thr Gly Gly Ala Pro Ala Pro Arg Glu  
 355 360 365  
 Pro Tyr Cys Val Met  
 370

配列番号 : 7

配列の長さ : 31

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

合成DNA

## 配列

AAAATCTAGA CGCGATGGCG AACGCGAGCG A

31

配列番号 : 8

配列の長さ : 31

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

合成DNA

## 配列

AAAATCTAGA GTCTATGTGG CGGGGCCTCC C

31

配列番号 : 9

配列の長さ : 34

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

合成DNA

## 配列

AAAATCTAGA TCTATGGCGA ACTATAGCCA TGCA

34

配列番号 : 10

配列の長さ : 35

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

合成DNA

## 配列

AAAATCTAGA AAGGCTAAAG ATTTACAGAT GCTCC

35

配列番号 : 11

配列の長さ : 33

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

合成DNA

配列

AAAATCTAGA GTATGGCCAA CACTACCGGA GAG

33

配列番号 : 12

配列の長さ : 31

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

合成DNA

配列

AAAATCTAGA CCTGTCTGCC TACCAGCCTG C

31

【書類名】図面

【図1】

SRB1 M A N A S E P G G S G G G E A A A L G - - - L K L A T L S L L L C V S L A G N 36  
 SRB2 M A N Y S H A A D N I L Q N L S P - - - L T A F L K L T S L G F I I Q V S V V G N 38  
 SRB3 M A N T T G E P E E V S G A L S P P S A S A Y V K L V L L G L I M C V S L A G N 40

SRB1 V L F A L L I V R E R S L H R A P Y Y L L L D L C L A D G L R A L A C L P A V M 76  
 SRB2 L L I S I L L V K D K T L H R A P Y Y F L L D L C C S D I L R S A I C F P F V F 78  
 SRB3 A I L S L L V L K E R A L H K A P Y Y F L L D L C L A D G I R S A V C F P F V L 80

SRB1 L A A R R A A A A A G A P P G A L G C K L L A F L A A L E C F H A A F L L L G V 116  
 SRB2 N S V K N G S T W T Y - - - G T L T C K V I A F L G V L S C F H T A F M L F C I 115  
 SRB3 A S V R H G S S W T F - - - S A L S C K I V A F M A V L F C F H A A F M L F C I 117

SRB1 G V T R Y L A I A H H R F Y A E R L A G W P C A A M L V C A A W A L A L A A A F 156  
 SRB2 S V T R Y L A I A H H R F Y T K R L T F W T C L A V - I C M V W T L S V A M A F 154  
 SRB3 S V T R Y M A I A H H R F Y A K R M T L W T C A A V - I C M A W T L S V A M A F 156

SRB1 P P V L D G G G - - - D D E D A P C A L E O R P D G A P G A L G F L L L L A V V 193  
 SRB2 P P V L D V G T Y S F I R E E D Q C T F Q H R S F R A N D S L G F M L L L A L I 194  
 SRB3 P P V F D V G T Y K F I R E E D O C I F E H R Y F K A N O T L G F M L M L A V L 196

SRB1 V G A T H L V Y L R L L F F I H D R R K M R E A R L V P A V S H D W T F H G P G 233  
 SRB2 L L A T Q L V Y L K L I F F V H D R R K M K P V Q F V A A V S Q N W T F H G P G 234  
 SRB3 M A A T H A V Y G K L L L F E Y R H R K M K P V Q M V P A I S O N W T F H G P G 236

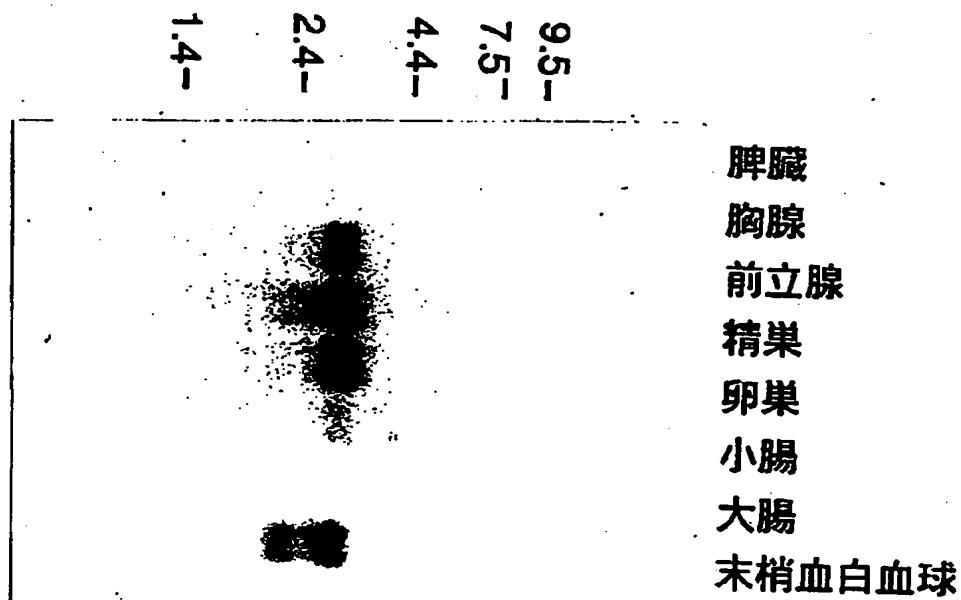
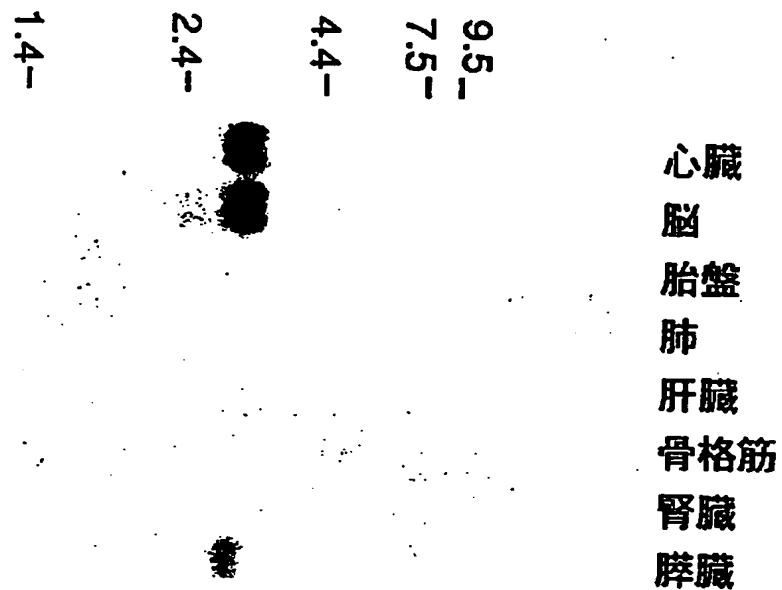
SRB1 A E G Q A A A N E T A G F G R G P T P P A L V G I R P A G P G R G A R R L L V L 273  
 SRB2 A S G Q A A A N W L A G F G R G P T P P T L L G I R Q N A N T T G R R R L L V L 274  
 SRB3 A T G O A A A N W I A G F G R G P M P P T L L G I R Q N G H A A S R R - L L G M 275

SRB1 E E F K T E K R L C K M F Y A V T L L F L L L W G P Y V V A S Y L R V L V R P G 313  
 SRB2 D E F K M E K R I S R M F Y I M T E L F L T L W G P Y L V A C Y W R V F A F G P 314  
 SRB3 D E V K G E K Q L G R M F Y A I T L L F L L L W S P Y I V A C Y W R V F V K A C 315

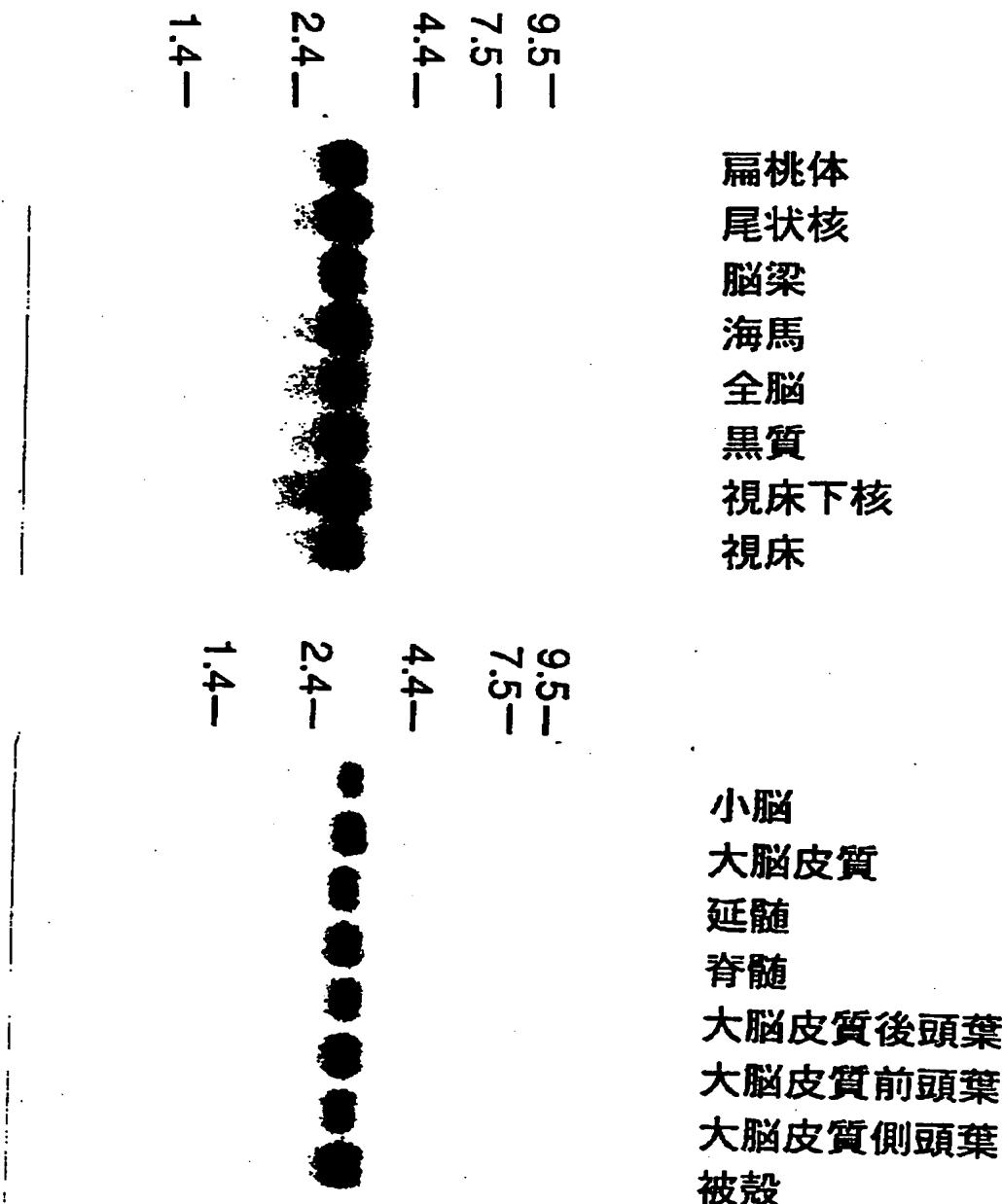
SRB1 A V P Q A Y L T A S V W L T F A Q A G I N P V V C F L F N R E L R D C F R A Q F 353  
 SRB2 V V P G G F L T A A V W M S F A Q A G I N P F V C I F S N R E L R R C F S T T L 354  
 SRB3 A V P H R Y L A T A V W M S F A Q A A V N P I V C F L L N K D L K K C L R T H A 355

SRB1 E C C Q S P R T T Q A T H P - - C D L K G I G L . 376  
 SRB2 L Y C R K S - - - R L P R E P Y C - - - V I . 371  
 SRB3 E - C W G T G G A P A P R E P Y C - - - V M . 374

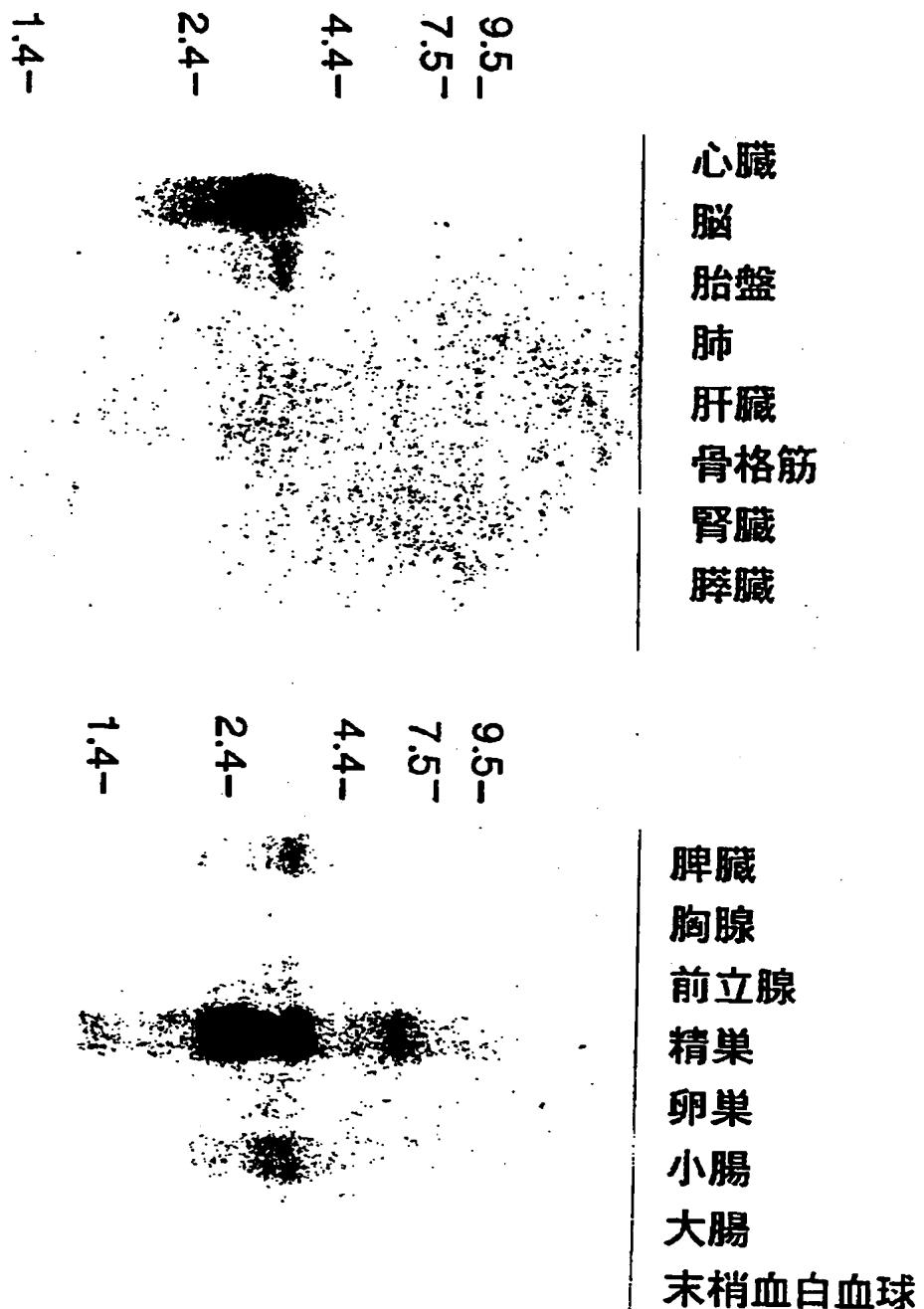
【図2】



【図3】



【図4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 新規G蛋白質共役型レセプターファミリーを中心性疾患の治療薬剤の標的として提供すること。

【解決手段】 新規G蛋白質共役型レセプターファミリーをコードする遺伝子を単離し、該新規G蛋白質共役型レセプターファミリーの製造、該G蛋白質共役型レセプターの活性を修飾する化合物およびペプチドのスクリーニングを可能とした。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ  
【訂正書類】 特許願

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【特許出願人】

【識別番号】 000006677

【住所又は居所】 東京都中央区日本橋本町2丁目3番11号

【氏名又は名称】 山之内製薬株式会社

## 【代理人】

申請人

【識別番号】 100089200

【住所又は居所】 東京都板橋区蓮根三丁目17番1号 山之内製薬株式会社 特許情報部

長井 省三

出願人履歴情報

識別番号 [000006677]

1. 変更年月日 1990年 8月10日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都中央区日本橋本町2丁目3番11号

氏 名 山之内製薬株式会社